

Recommandations pour l'analyse des fibres minérales dans les échantillons biologiques

*Rapport du groupe de travail
de l'European Respiratory Society*

Recommandations pour l'analyse des fibres minérales dans les échantillons biologiques

Rapport du groupe de travail
de l'European Respiratory Society

Depuis l'arrêté du 1^{er} Juillet 1999 du ministère de l'Emploi et de la Solidarité (publié au J.O. du 2 juillet 1999), il a été ajouté à la nomenclature des actes de biologie médicale la numération des corps asbestosiques en microscopie optique dans les échantillons biologiques suivants : parenchyme pulmonaire, liquide de lavage bronchoalvéolaire et expectorations.

L'apparition de cet acte à la nomenclature va vraisemblablement entraîner le développement des laboratoires souhaitant effectuer ces analyses. Seul le Laboratoire d'Etude des Particules Inhalées de la Ville de Paris effectuait auparavant ces analyses à la demande des différents cliniciens français.

Il est indispensable que les nouveaux laboratoires qui vont procéder à ces analyses respectent un certain nombre de règles de bonnes pratiques spécifiques, afin d'en garantir la fiabilité du résultat. Une demande a été initiée auprès du ministère de l'Emploi et de la Solidarité afin que soit envisagée une démarche de type accréditation.

Un article, publié dans l'European Respiratory Journal en juillet 1998, fait le point sur les recommandations pouvant être faites sur ces analyses (ERJ, 1998, 11, pp. 1416-1426). Ces recommandations sont proposées par un groupe de travail qui s'est réuni sous l'égide de la Société Européenne de Pneumologie.

Il a paru intéressant que ce rapport soit porté, dans son intégralité, à la connaissance des médecins du travail et des médecins conseils de la Sécurité sociale qui vont être confrontés à des demandes concernant la prescription et l'interprétation de ce type d'analyses.

Le terme « amiante » désigne six silicates hydratés qui peuvent former des fibres très fines : le chrysotile, la crocidolite, l'amosite, l'anthophyllite, la trémolite et l'actinolite [1]. Le chrysotile appartient au groupe des serpentines, et les cinq autres minéraux à celui des amphiboles. Les faisceaux de fibres de chrysotile se fragmentent facilement et, en milieu faiblement acide, on observe une solubilisation de leur magnésium. Ces facteurs peuvent contribuer à la moindre biopersistance du chrysotile dans les poumons. Les amphiboles correspondent à des silicates en chaîne avec des tétraèdres de silicates. Elles ont une plus grande biopersistance.

L'amosite, le chrysotile et la crocidolite ont connu dans le passé toutes sortes d'utilisations industrielles. L'anthophyllite était produite exclusivement en Finlande. La trémolite et l'actinolite n'ont pas eu d'applications industrielles mais sont présentes dans les sols de vastes régions du globe : dans la zone méditerranéenne (Turquie, Grèce, Chypre, Corse), en Afgha-

nistan et en Nouvelle-Calédonie. Dans ces régions, il peut y avoir des fibres de trémolite dans les matériaux utilisés traditionnellement pour les badigeons intérieurs et les enduits extérieurs. De la trémolite et de l'actinolite peuvent également être présentes dans les gisements de chrysotile, de talc, de dolomite, de pierre à chaux et de vermiculite.

Les techniques d'analyse en microscopie des fibres d'amiante dans le parenchyme pulmonaire (PP) et le liquide de lavage bronchoalvéolaire (LLBA) ont fourni des informations essentielles pour la compréhension des maladies liées à l'amiante. Ces techniques sont de plus en plus utilisées dans les études cliniques et pour des besoins médico-légaux. Entre autres avantages, elles permettent l'estimation individuelle des expositions passées. L'analyse minéralogique de la rétention pulmonaire en fibres est particulièrement utile, notamment lorsque les données relatives aux antécédents professionnels manquent, ou qu'elles sont peu fiables ou peu concluantes.

P. DE VUYST⁽¹⁾,
A. KARIJAINEN⁽²⁾,
P. DUMORTIER⁽³⁾,
J.C. PARON⁽⁴⁾,
E. MONSO⁽⁵⁾,
P. BROCHARD⁽⁶⁾,
H. TESCHLER⁽⁷⁾,
A. TOSSAVAINEN⁽⁸⁾,
A. GIBBS⁽⁹⁾
⁽¹⁾ Hôpital Erasme,
Bruxelles, Belgique
⁽²⁾ Finnish Institute of
Occupational Health,
Helsinki, Finlande
⁽³⁾ INSERM et Laboratoire
d'Etude des Particules
Inhalées, Paris, France
⁽⁴⁾ Hospital Germans Trias i
Pujol, Badalona, Espagne
⁽⁵⁾ Laboratoire d'Etude des
Particules Inhalées, Paris, et
Université de Bordeaux,
France
⁽⁶⁾ Ruhrlandklinik, Essen,
Allemagne
⁽⁷⁾ Llandough Hospital,
Penarth, South Glamorgan,
Royaume-Uni

INRS

Documents
pour le médecin
du travail
N° 81
1^{er} trimestre 2000

Des différences dans les techniques d'échantillonnage, de préparation et de comptage, dans les définitions des populations de référence et dans l'expression des résultats ont rendu très difficile la comparaison des résultats obtenus par les différents laboratoires. Une interprétation fiable n'est possible que si l'on est en mesure de comparer le résultat avec ceux qui ont été obtenus, par le même laboratoire et à l'aide de la même méthode, dans des séries suffisamment importantes de témoins et de malades.

Il est apparu qu'il importait de créer un groupe de travail des laboratoires européens œuvrant dans ce domaine, afin d'harmoniser les analyses (Le *tableau I*

donne la liste des participants). Les travaux ont été financés par l'European Respiratory Society (ERS). Deux réunions ont eu lieu, l'une à Bruxelles en décembre 1994, l'autre à Barcelone en septembre 1995. Les conclusions finales ont été présentées à Stockholm, en septembre 1996, à l'occasion d'un symposium organisé dans le cadre du Congrès de l'ERS.

Cinq sous-groupes ont travaillé sur différents thèmes : leurs rapports et conclusions sont résumés dans le présent document.

Les noms des membres de ces sous-groupes figurent dans le *sommaire* à la suite de l'intitulé du thème abordé. Les principaux termes et abréviations utilisés ici sont explicités dans le *tableau II*.

S O M M A I R E

1. Définition des populations témoins et des niveaux de référence

P. Brochard, E. Monsó, A. Gibbs, J.C. Pairon, P. Dumortier

2. Echantillonnage, techniques de préparation et d'analyse

P. Dumortier, M.A. Billon-Galland, A. Tossavainen

- 2.1. *Echantillonnage*
- 2.2. *Parenchyme pulmonaire*
- 2.3. *Préparation de l'échantillon*
- 2.4. *Comptage des corps asbestosiques et des fibres d'amiante*
- 2.5. *Expression des résultats*
- 2.6. *Reproductibilité et comparaison des résultats*

3. Fibres d'amiante dans le parenchyme pulmonaire au cours des différentes maladies liées à l'amiante

A. Gibbs, A. Karjalainen, S. Anttila, M. A. Billon-Galland, M. Fischer, K. Rödelsperger

- 3.1. *Plaques pleurales*
- 3.2. *Fibrose pleurale diffuse*
- 3.3. *Mésothéliome malin*
- 3.4. *Asbestose*
- 3.5. *Cancer bronchopulmonaire*

4. Corps asbestosiques dans le parenchyme pulmonaire, le liquide de lavage bronchoalvéolaire et l'expectoration

H. Teschler, A. Karjalainen, P. De Vuyst, P. Dumortier, E. Monsó, U. Costabel

- 4.1. *Parenchyme pulmonaire*
- 4.2. *Liquide de lavage bronchoalvéolaire*
- 4.3. *Expectoration*

5. Présence de fibres et de corps asbestosiques dans les échantillons biologiques : éléments pour l'interprétation

P. De Vuyst, P. Brochard, A. Gibbs, M. Fischer, A. Karjalainen, U. Costabel

- 5.1. *Contribution à l'évaluation de l'exposition*
- 5.2. *Contribution au diagnostic clinique*
- 5.3. *Considérations d'ordre médico-légal*

Groupe de travail de l'ERS sur les recommandations pour l'analyse des fibres minérales dans les échantillons biologiques : les participants et leurs laboratoires

TABLEAU I

Pays	Laboratoire	Participants	Localisation du laboratoire
ALLEMAGNE	(D1)	U. Costabel H. Teschler M. Fischer	Ruhrlandklinik Essen et Institut für Pathologie Berufsgenossenschaftliche Kliniken Bergmannsheil Mesothelium Register, Bochum
ALLEMAGNE	(D2)	H.J. Weitowitz K. Rödelsperger	Institut und Poliklinik für Arbeits- und Sozialmedizin, Giessen
ROYAUME-UNI	(GB)	A. Gibbs F.D. Pooley R. Mitha	Llandough Hospital University College, Pathology Dept, Penarth, et School of Engineering, University of Wales Cardiff
BELGIQUE	(B)	P. Dumortier P. De Vuyst	Hôpital Erasme, Unité de Recherche sur la Toxicité des Particules Minérales, Bruxelles
ESPAGNE	(SP)	E. Monsó	Hospital German Trias I Pujol, Servei Pneumologia, Badalona
FRANCE	(F)	P. Brochard J.C. Pairon M.A. Billon-Galland L. Martinon	Université de Bordeaux Service de Pneumologie et de Pathologie Professionnelle, Créteil Laboratoire d'Etude des Particules Inhalées, Paris
FINLANDE	(FIN)	S. Anttila A. Karjalainen A. Tossavainen T. Tuomi	Finnish Institute of Occupational Health, Depts of Occupational Medicine, Epidemiology and Biostatistics, and Industrial Hygiene and Toxicology, Helsinki
ITALIE	(I1)	F. Mollo P. Burlo	Biomedical Sciences and Human Oncology, Dept of Pathological Anatomy and Histopathology, Turin
ITALIE	(I2)	L. Paoletti M. Falchi	Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Ultrastructure, Rome

Définition des abréviations et des termes importants

TABLEAU II

CA	Corps asbestosique : désigne les fibres entourées d'une gaine ferroprotidique par les macrophages du poumon
Fibre	Dans les études consacrées aux maladies liées à l'amiante, ce terme désigne, dans son acception la plus courante, des particules à bords parallèles dont le rapport longueur/diamètre est ≥ 3 [2]. Des critères minéralogiques plus stricts, fondés sur l'analyse de la structure cristalline, sont parfois utilisés
LBA	Lavage bronchoalvéolaire
LLBA	Liquide de lavage bronchoalvéolaire
MEB	Microscopie électronique à balayage
MET	Microscopie électronique à transmission
MO	Microscopie optique
PP	Parenchyme pulmonaire
μm	Micromètre (= 10^{-6} m)

INRS

Documents
pour le médecin
du travail
N° 81
1^{er} trimestre 2000

1. Définition des populations témoins et des niveaux de référence

A condition d'utiliser une méthode suffisamment sensible, la recherche de fibres d'amiante dans les poumons donnera toujours un résultat positif. Il faut par conséquent que les laboratoires définissent des populations témoins et des valeurs de référence pour les méthodes qu'ils mettent en œuvre. Ces valeurs de référence peuvent servir à déterminer si la concentration observée correspond à une rétention anormale de fibres minérales et à estimer avec quelle probabilité la maladie en cause est imputable à une exposition passée aux fibres.

Pour ce qui est des concentrations de fibres minérales dans les échantillons biologiques, le terme « population témoin » ou « population de référence » peut être utilisé dans deux contextes différents :

■ 1 ■ Les études épidémiologiques cas-témoins analysent la relation entre le risque de survenue d'une maladie et des niveaux donnés d'exposition passée.

La population témoin est définie en fonction des besoins spécifiques de chaque étude. Aucune personne ne doit être exclue de cette population du fait de ses expositions passées. L'objectif est de constituer une population représentative de la population générale de la région dans laquelle l'étude est effectuée. On compare alors les niveaux d'exposition des témoins et des cas afin de calculer des risques estimés associés à des niveaux donnés d'exposition. L'âge, le sexe, les habitudes tabagiques, le secteur géographique, etc. peuvent être associés à l'exposition passée. Les critères d'inclusion appliqués aux témoins ne doivent pas introduire de facteurs de confusion dans l'interprétation des résultats. Il convient évidemment que les sujets présentant la maladie étudiée soient exclus du groupe témoin, mais il n'en va pas nécessairement de même des sujets atteints d'autres maladies. Les critères d'exclusion dépendent de l'objectif et de la conception de l'étude. Un nombre limité d'études cas-témoins portant sur des maladies spécifiques et reposant sur l'analyse des fibres dans le poumon ont été publiées et font l'objet d'une discussion dans la troisième partie de ce rapport.

■ 2 ■ Les laboratoires ont recours à différentes populations de référence pour décrire les concentrations de fibres mesurées dans le PP et le LLBA des différentes variétés de sous-populations exposées et non exposées que l'on peut identifier au sein de la « population générale » :

a) personnes habitant des zones rurales sans gisement d'amiante et pour lesquelles il n'y a pas d'exposition professionnelle à l'amiante identifiable ;

b) personnes habitant des zones urbaines, en l'absence d'exposition professionnelle identifiable ;

c) personnes habitant des zones où les sols contiennent de l'amiante ;

d) personnes subissant une exposition extra-professionnelle (domestique, par exemple) ;

e) personnes exposées professionnellement, l'exposition étant liée à l'utilisation industrielle de l'amiante au poste de travail et présentant différents niveaux d'intensité (de légère à modérée, jusqu'à très élevée).

Pour les prélèvements de parenchyme pulmonaire, il y a, en pratique, deux manières de constituer une population de référence : les autopsies ou les interventions chirurgicales. Elles présentent toutes deux un inconvénient majeur : dans le premier cas, il est difficile d'établir un historique fiable et complet des expositions passées ; dans le second cas, pour des raisons d'ordre pratique, les populations de référence composées de personnes ayant subi une intervention chirurgicale sont le plus souvent constituées de patients atteints de cancer bronchopulmonaire, pour lesquels des expositions faibles à l'amiante n'ont peut-être pas été repérées, même par un questionnaire adapté ou une enquête professionnelle approfondie. La plupart des laboratoires participants disposent essentiellement de données sur les populations de référence (2b) et (2e), et certains d'entre eux disposent de séries distinctes de cas d'autopsie et de cas de cancer bronchopulmonaire. Le groupe de travail est d'avis que l'idéal serait de disposer à la fois d'une série de cas d'autopsie, avec des données incomplètes sur les expositions passées, et d'une série de cas de cancer bronchopulmonaire, avec des données aussi précises que possible sur ces antécédents. Des niveaux de rétention de référence chez des fumeurs et chez des non-fumeurs devraient idéalement venir compléter cette évaluation.

Il est recommandé d'utiliser un questionnaire standardisé pour l'inclusion des personnes dans les populations de référence (définies en 2). Pour ce qui est du groupe des personnes non exposées professionnellement, il convient d'adopter une démarche reflétant au mieux la réalité, et d'inclure des ouvriers pour lesquels l'exposition à l'amiante est improbable ou impossible et des employés de bureau. Les personnes présentant des niveaux de rétention en fibres d'amiante supérieurs à la normale ne devraient pas être exclues des populations de référence « non exposées » si le questionnaire n'a pas mis en évidence des antécédents d'exposition justifiant cette exclusion ; de même, les personnes présentant des niveaux élevés de marqueurs d'exposition en

microscopie optique (nombre élevé de corps asbestosiques dans le LLBA ou le PP) ne devraient pas non plus être exclues de ces populations pour les analyses complémentaires en microscopie électronique à transmission (MET) ou à balayage (MEB). Étant donné qu'il est impossible, pour les cas autopsiés, d'établir l'historique détaillé des expositions afin d'exclure ceux qui ont été exposés à l'amiante dans le passé, il convient d'exclure de ces études les patients atteints de maladies pouvant être liées à l'exposition à l'amiante. Cette règle ne doit pas s'appliquer aux études cas-témoins : seuls les sujets atteints de la maladie faisant l'objet de l'étude doivent être exclus du groupe témoin.

En conclusion, étant donné les divers problèmes de définition et les diverses méthodologies et procédures de sélection utilisables pour l'inclusion de sujets dans la population de référence et pour l'établissement de leurs antécédents d'exposition, il est très important de définir le type de population de référence auquel on se rapporte. Le *tableau III* récapitule les valeurs de référence des concentrations pulmonaires de fibres d'amiante actuellement utilisées par certains des laboratoires participants comme limite supérieure chez des habitants de zones urbaines sans exposition professionnelle à l'amiante. Les valeurs de référence sont de l'ordre de 1 à 2.10^6 fibres.g⁻¹ de tissu pulmonaire sec pour les fibres d'amphiboles totales et de $0,1.10^6$ fibres.g⁻¹ de tissu pulmonaire sec pour les fibres d'amphiboles de longueur supérieure à 5 µm.

2. Echantillonnage, techniques de préparation et d'analyse

L'analyse des fibres d'amiante dans les prélèvements permet d'estimer la charge pulmonaire en fibres à l'instant du prélèvement. Cette rétention reflète à la fois les mécanismes de dépôt et de clairance des fibres. Pour que l'analyse soit précise, il faut qu'elle se fonde sur un échantillon représentatif, des techniques de préparation appropriées et fiables, des instruments adéquats, le recours à des techniciens rompus à ce type d'analyse et une expression correcte des résultats.

2.1. ECHANTILLONNAGE

L'échantillonnage constitue la première étape importante de l'analyse des fibres. Pour que l'étude quantitative des fibres soit précise, l'échantillon doit être le plus représentatif possible du poumon entier. S'il s'agit seulement d'identifier le type des fibres présentes, la taille de l'échantillon et sa localisation ont moins d'importance.

Valeurs de référence pour le comptage des fibres en MET utilisées par les laboratoires participants

TABLEAU III

Laboratoire	Fibres, toutes longueurs confondues (fibre.g ⁻¹ de tissu pulmonaire sec)	Fibres ≥ 5 µm (fibre.g ⁻¹ de tissu pulmonaire sec)
D1		1,5.10 ⁶ amiante (tous types confondus)
D2	2,0.10 ⁶ amphiboles 3,0.10 ⁶ chrysotile 4,0.10 ⁶ amiante (tous types confondus)	0,18.10 ⁶ amphiboles 0,14.10 ⁶ chrysotile 0,3.10 ⁶ amiante (tous types confondus)
F	1,0.10 ⁶ amphiboles 10.10 ⁶ amiante (tous types confondus)	
B	1,0.10 ⁶ amphiboles	
GB	1,0.10 ⁶ amosite 1,0.10 ⁶ crocidolite 15.10 ⁶ chrysotile	
FIN	1,0.10 ⁶ amphiboles (MEB)	

MET : microscopie électronique à transmission. MEB : microscopie électronique à balayage.

INRS

Documents pour le médecin du travail
N° 81
1^{er} trimestre 2000

2.2. PARENCHYME PULMONAIRE

On observe des variations marquées (d'un facteur 1 à 10) des concentrations de fibres d'amiante entre différents échantillons d'un même poumon [3]. L'intervalle maximum entre 2 prélèvements à partir duquel une telle variation peut apparaître n'est pas encore bien défini.

Idéalement, l'analyse des fibres dans le PP portera sur le pool de trois prélèvements de 1 à 2 cm³ chacun (apex du lobe supérieur, apex du lobe inférieur, base du lobe inférieur). Les prélèvements ne devront pas être réalisés dans un site de tissu tumoral ou de fibrose pleurale. La variabilité des résultats obtenus entre les différents prélèvements est de l'ordre de 50 % en moyenne, avec des extrêmes allant du simple au triple [3]. Seules les autopsies et les pneumonectomies permettent de réaliser au mieux ce type de prélèvement. Les échantillons provenant des pièces de lobectomie et d'exérèses volumineuses effectuées par thoracoscopie vidéo-assistée sont « acceptables ». Les blocs d'inclusion en paraffine comportent un risque de contamination de la paraffine par des fibres d'amiante [4], mais non par des corps asbestosiques. Aussi convient-il, lorsque la paraffine est utilisée, d'interpréter avec prudence les mesures de concentration de fibres d'amiante. Les prélèvements de tissu tumoral ou fibreux ne sont « pas acceptables » pour l'évaluation quantitative des fibres car ils contiennent peu de particules et donnent habituellement des faux-négatifs lors du comptage. Les petits prélèvements de PP obtenus par thoracoscopie et les biopsies transbronchiques ne sont pas fiables. La localisation anatomique des ganglions lymphatiques peut influencer sur leur teneur en particules. La plèvre pariétale est un milieu très hétérogène. Les prélèvements provenant de ces deux structures « ne conviennent pas » pour ces analyses en routine mais peuvent être utilisés dans le cadre d'études de type recherche, par exemple pour l'étude de la migration des fibres dans l'organisme.

Liquide de lavage bronchoalvéolaire (LLBA)

Le lavage bronchoalvéolaire est une technique bien moins invasive que la thoracoscopie ou la biopsie, souvent utilisée pour évaluer la charge pulmonaire en fibres. Un échantillon de liquide de lavage bronchoalvéolaire peut être accepté s'il répond aux critères suivants : le prélèvement doit de préférence être fait dans le lobe moyen ou dans la lingula, du côté controlatéral à la tumeur, puisque celle-ci risque d'affecter la quantité du liquide instillé et récupéré ; il faut instiller

3 x 50 ml ou 5 x 20 ml de solution saline ; la récupération doit être de 30 % au moins ; le liquide récupéré ne doit pas être filtré sur gaze ; l'analyse cytologique confirmera l'origine alvéolaire de l'échantillon et sera réalisée sur au moins 10 ml de liquide, prélevés de préférence sur la deuxième ou la troisième fraction, qui contiennent la plus forte concentration de corps asbestosiques [5].

Si l'échantillon ne répond pas à ces critères, on pourrait accepter un résultat positif s'il est supérieur au niveau de référence, mais pas un résultat négatif.

2.3. PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

Le but ultime de la préparation est d'isoler les fibres des constituants biologiques, tout en les modifiant le moins possible afin d'obtenir une évaluation très précise de la teneur en fibres de l'échantillon. La digestion par l'hydroxyde de potassium, l'hypochlorite de sodium ou la formamide, ou la calcination à basse température sont les techniques les plus couramment utilisées. La suspension de particules ainsi obtenue est filtrée sur des membranes de filtration adaptées à un examen en microscopie optique ou en microscopie électronique. Le rapport *poids sec / poids humide* varie de 5 à 20 % ; il convient de le mesurer pour chaque échantillon et d'éviter le recours à un facteur de conversion moyen de 10. La préparation entraîne parfois des modifications de la concentration, de la composition chimique ou de la distribution de la taille des fibres. La dessiccation avant calcination et l'utilisation mal contrôlée des ultrasons dans le but de disperser le résidu peuvent provoquer des cassures des fibres, entraînant ainsi une augmentation artificielle du nombre des fibres et une diminution de leur taille. Les centrifugations successives peuvent entraîner une perte de fibres.

Il faut prendre particulièrement soin d'éviter toute contamination au cours du prélèvement et de la préparation. Des exemples types de sources de contamination sont l'amidon ou le talc provenant de gants de chirurgie, les fibres organiques provenant de vêtements, les particules provenant de liquides de préparation non filtrés avant utilisation, les cristaux produits par précipitation à partir des réactifs servant à la digestion de l'échantillon. Il est conseillé d'éviter de préparer et d'entreposer les échantillons de matériaux contenant de l'amiante dans le local où sont traités les échantillons biologiques.

Principaux avantages et inconvénients de la microscopie électronique et de la microscopie optique dans le comptage des fibres (d'amiante) dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire et les échantillons de tissu pulmonaire

Méthode	Avantages	Inconvénients
Microscopie optique	Rapide et facile. Peu coûteuse. Détection des concentrations faibles (0,1 CA.ml ⁻¹ ou 30 CA.g ⁻¹) possible	Faible résolution (ne permet de détecter que les fibres de plus de 0,2 µm d'épaisseur) Par conséquent limitée aux CA et aux fibres de grande dimension Ne permet pas le typage des fibres
Microscopie électronique	Pouvoir de résolution élevé (en MET possibilité de détecter des fibres fines de Ø 0,01 µm). Par conséquent, toutes les fibres sont détectées. Permet le typage des fibres et la mesure de leurs dimensions.	Long Coûteux Détection des concentrations inférieures à 50 fibres.ml ⁻¹ ou 50 000 fibres.g ⁻¹ très longue

CA : corps asbestosique. MET : microscopie électronique à transmission

2.4. COMPTAGE DES CORPS ASBESTOSIQUES ET DES FIBRES D'AMIANTE

Les avantages et les inconvénients de la microscopie optique (MO) et de la microscopie électronique (ME) sont résumés dans le *tableau IV*. Le comptage en microscopie optique permet de détecter des concentrations faibles, mais seulement de fibres de grandes dimensions et de corps asbestosiques. Pour détecter les fibres très fines, il faut avoir recours à la microscopie électronique. La MET, préférée à la MEB en raison de sa meilleure résolution, est utilisée par plus de 90 % des laboratoires.

La concentration la plus faible détectable par chaque méthode est décrite par la sensibilité analytique ou la limite de détection de la méthode. La sensibilité analytique est la concentration calculée correspondant à l'observation d'une fibre ou d'un corps asbestosique lors de l'analyse. La limite de détection est définie comme la limite supérieure de l'intervalle de confiance à 95 % dans une distribution unilatérale de Poisson, pour un comptage nul. Elle équivaut à 2,99 fois la sensibilité analytique. Il est important de connaître la limite de détection ; en effet, une méthode avec une limite de détection élevée peut donner des résultats négatifs même chez des personnes ayant été fortement exposées.

Les instruments de ME sont habituellement équipés de dispositifs permettant de déterminer la composition chimique et la structure cristalline de la fibre. Il est possible d'identifier les différents types de fibres d'amiante et de fibres non asbestosiques par comparaison avec les données correspondant à des matériaux de référence. Les fibres non asbestosiques peuvent représenter une proportion importante de la charge totale en fibres ; les plus courantes sont des fibres de mullite, de rutile, de silice, d'oxyde d'aluminium, de mica et de kaolin [3]. Leur concentration est souvent supérieure à celle de l'amiante, en particulier dans les échantillons contenant des concentrations faibles ou moyennes de fibres d'amiante. A la différence de la MO, la ME permet de les distinguer des fibres d'amiante.

2.5. EXPRESSION DES RÉSULTATS

Les résultats sont habituellement exprimés en CA ou en fibres.ml⁻¹ de LLBA, ou en CA ou en fibres.g⁻¹ de tissu pulmonaire sec. Il est recommandé de ne pas les exprimer en CA ou en fibres.g⁻¹ de tissu pulmonaire humide, ni en CA ou en fibres.cm⁻³ de poumon. Lorsque les résultats sont négatifs, il convient de spécifier la sensibilité analytique. Il est recommandé d'indiquer les types de fibre et de présenter séparément les concentrations de fibres d'amiante et de fibres non asbestosiques. Il convient, au moins pour la présentation des résultats d'études scientifiques, de donner la

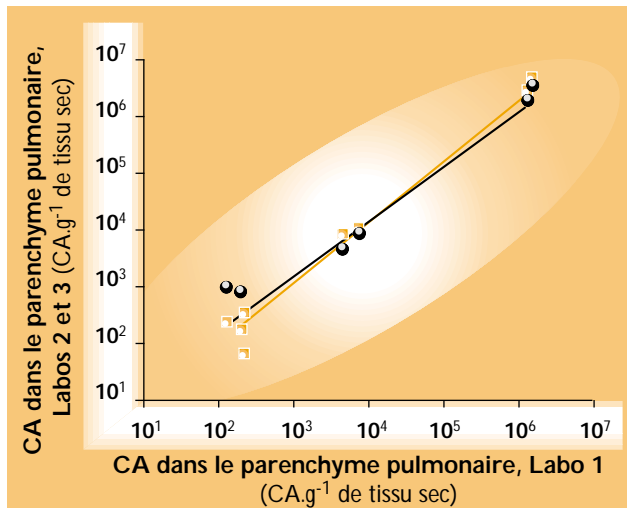


Fig. 1. Comparaison interlaboratoires des concentrations de corps asbestosiques (CA) dans le parenchyme pulmonaire en microscopie optique sur des échantillons analysés par trois laboratoires européens (laboratoires 1 à 3).

r^2 : corrélation par l'analyse de régression linéaire.
 □ : Labo 2 versus Labo 1, $r^2 = 0,965$;
 ● : Labo 3 versus Labo 1, $r^2 = 0,855$.
 (P. Dumortier, F.D. Pooley, P. Brochard, données non publiées) (Labo = laboratoire)

moyenne géométrique de la longueur, du diamètre et du rapport longueur sur diamètre des fibres.

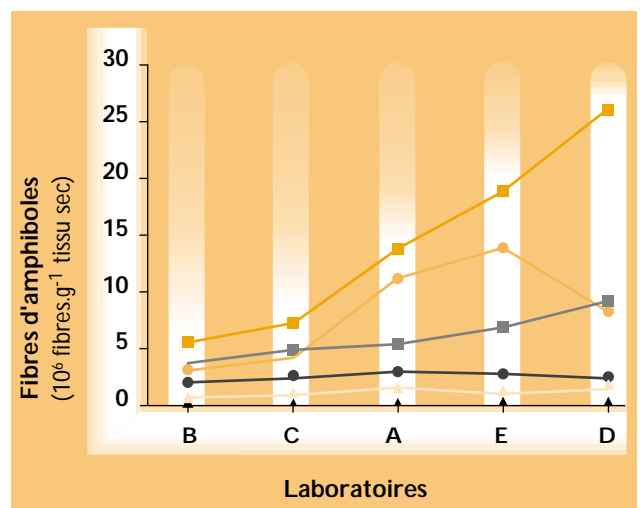
2.6. REPRODUCTIBILITÉ ET INTERCOMPARAISON DES RÉSULTATS

L'analyse répétée d'un même échantillon doit donner des résultats cohérents dans un laboratoire donné (reproductibilité intralaboratoire). Pour ce qui est des comparaisons interlaboratoires, la *figure 1* montre que les concentrations de CA dans le PP mesurées par trois laboratoires expérimentés ont pu être comparées de manière fiable. De façon analogue, trois grandes

études indépendantes consacrées à la comparaison des concentrations de CA dans le LLBA et le PP ont donné des équations de régression très similaires [6]. En ce qui concerne le comptage des fibres d'amiante en ME, la *figure 2* représente les résultats d'une comparaison portant sur le comptage en MET sur des échantillons de parenchyme pulmonaire homogénéisés dans cinq laboratoires européens [7]. Il y a de nettes différences d'un laboratoire à l'autre. Néanmoins, les échantillons présentant des concentrations basses de fibres ont été identifiés comme tels par tous les laboratoires. Le même constat a été fait pour les échantillons ayant des concentrations élevées.

Fig.2. Comparaison interlaboratoires du comptage des fibres d'amphibole dans le parenchyme pulmonaire en microscopie électronique à transmission dans cinq laboratoires européens

■ : échantillon 1 ; ● : échantillon 2 ;
 □ : échantillon 3 ; ● : échantillon 4 ;
 ▲ : échantillon 5 ; ▲ : échantillon 6



En conclusion, l'analyse minéralogique permet d'évaluer la charge en fibres d'un échantillon au moment du prélèvement mais ne fournit pas d'informations sur les fibres qui ont fait l'objet d'une épuration par un mécanisme de clairance. Il importe de ne pas oublier que le chrysotile présente une biopersistance inférieure à celle des amphiboles. Le choix et la qualité de l'échantillon jouent un rôle essentiel, et ces analyses doivent être effectuées par des laboratoires spécialisés maîtrisant tous les aspects de ces techniques. Les procédures doivent toujours être les mêmes, être décrites de façon claire et donner des résultats reproductibles. En comparaison de l'analyse en routine des corps asbestosiques en MO, les résultats obtenus avec des techniques plus complexes (par exemple, la ME) sont sujets à une plus grande variabilité d'un laboratoire à l'autre, ce qui vient compliquer les comparaisons interlaboratoires.

3. Fibres d'amiante dans le parenchyme pulmonaire au cours des différentes maladies liées à l'amiante

Il est très important de bien comprendre qu'il existe des différences de relation dose-réponse entre parenchyme pulmonaire et plèvre en cas d'exposition à l'amiante, ainsi qu'un gradient de rétention en fibres pour les différentes maladies liées à l'amiante. Les plus fortes valeurs médianes de rétention pulmonaire en fibres sont observées dans l'asbestose, les plus faibles chez les sujets porteurs de plaques pleurales, le mésothéliome occupant une position moyenne.

3.1. PLAQUES PLEURALES

Seules quelques études ont été consacrées à l'analyse de la charge pulmonaire en fibres d'amiante dans le cas de plaques pleurales. Dans une étude portant sur 25 cas de plaques pleurales, des corps asbestosiques ont été retrouvés dans tous les prélèvements, et leurs concentrations étaient supérieures aux valeurs normales dans 56 % des cas [8]. Entre les sujets présentant des plaques et les témoins, il n'a pas été constaté de différences dans la fréquence de l'exposition (avérée ou présumée) à l'amiante, estimée sur la base des informations fournies sur l'activité professionnelle par les calendriers professionnels. Gylseth et coll. [9] ont trouvé une concentration médiane (analyse en MEB) de

2,2 (0,1-13).10⁶ fibres non gainées.g⁻¹ de tissu pulmonaire sec dans 14 cas de plaques pleurales, contre 0,6.10⁶ fibres.g⁻¹ de tissu pulmonaire sec chez 12 témoins. Gibbs et coll. ont trouvé une élévation des concentrations de fibres d'amphiboles chez 6 patients présentant des plaques pleurales sur 22, mais n'ont pas trouvé de corrélation entre les concentrations de fibres et le nombre ou la taille des plaques. Dans une étude finlandaise portant sur 300 cas d'autopsie (hommes, zone urbaine), des concentrations de fibres d'amiante supérieures aux valeurs de référence (> 1,0.10⁶ fibres d'amphiboles.g⁻¹ de tissu pulmonaire sec, analyse en MEB) ont été trouvées dans 24 % des cas de plaques pleurales. Les concentrations médianes de fibres d'amiante étaient légèrement plus élevées chez les cas présentant des plaques étendues que chez ceux ne présentant pas de plaques, mais elles demeuraient inférieures dans ces deux groupes à la valeur de référence reflétant une exposition professionnelle (0,57.10⁶ et 0,16.10⁶ fibres d'amphiboles.g⁻¹ de tissu pulmonaire sec) [11]. Une étude française a montré un nombre élevé de corps asbestosiques dans le LLBA chez 40 % des sujets présentant des plaques pleurales, mais sans corrélation entre l'étendue des plaques et le nombre de CA/ml dans le LLBA [12].

Pour résumer, dans les cas présentant des plaques pleurales sans asbestose, ce qui constitue la majorité des observations faites lors d'études post mortem, les concentrations de fibres d'amphiboles sont légèrement augmentées dans près de la moitié des cas examinés dans les études publiées. Par contre, il n'est pas observé d'augmentation de la concentration de chrysotile. Plusieurs explications sont possibles pour ces cas de plaques pleurales sans augmentation de la concentration de fibres, :

- 1) les plaques pleurales ne sont pas dues à l'exposition à l'amiante ;
- 2) les plaques sont liées au chrysotile mais, en raison des différences de caractéristiques de clairance des fibres, les fibres de chrysotile sont éliminées et ne sont pas détectées (il existe fort peu de données épidémiologiques pour étayer cette hypothèse) ;
- 3) l'exposition est si faible qu'elle ne se traduit pas par une élévation de la charge pulmonaire en fibres ;
- 4) les fibres ont migré vers la plèvre et ne sont plus observables dans le parenchyme pulmonaire [13].

3.2. FIBROSE PLEURALE DIFFUSE

Il existe très peu de publications sur les concentrations de fibres dans les tissus pulmonaires dans le cas de fibrose pleurale diffuse liée à l'amiante. Dans une étude portant sur 13 cas, des échantillons prélevés dans le PP central et sous-pleural et dans la plèvre ont été

analysés en MET [14]. On n'a pas trouvé de différence significative entre la zone centrale et la zone sous-pleurale, mais les concentrations d'amphiboles étaient plus élevées chez 11 des cas que chez les témoins du même laboratoire. En règle générale, les concentrations étaient supérieures à celles observées chez les sujets porteurs de plaques pleurales, mais inférieures à celles observées chez les sujets atteints d'asbestose.

3.3. MÉSOTHÉLIOME MALIN

Plusieurs études ont été publiées sur la teneur en fibres minérales du parenchyme pulmonaire prélevé chez des patients atteints de mésothéliome. Chez les patients atteints de mésothéliome mais sans asbestose associée, ce qui est fréquent, les études ont généralement révélé des concentrations élevées de fibres d'amphiboles, mais pas de chrysotile, par rapport aux témoins et aux sujets porteurs de plaques pleurales. Par contre, ces concentrations sont inférieures à celles trouvées chez les sujets atteints d'asbestose [3, 15]. Des concentrations augmentées de fibres d'amphiboles ont également été trouvées dans le PP de patients atteints de mésothéliome qui, du point de vue épidémiologique, étaient considérés comme exposés principalement au chrysotile : c'est le cas, par exemple, de la trémolite chez les mineurs de chrysotile du Québec [16] ou de la crocidolite chez les ouvriers du textile de Rochdale [17].

Dans des études cas-témoins, des risques de mésothéliome statistiquement augmentés ont été associés à des concentrations de fibres d'amphiboles dépassant $1,0 \cdot 10^6$ fibres (longueur $> 1 \mu\text{m}$). g^{-1} de tissu pulmonaire sec, $0,1$ à $0,2 \cdot 10^6$ fibres (longueur $> 5 \mu\text{m}$). g^{-1} de tissu pulmonaire sec ou $0,3 \cdot 10^6$ à $1,0 \cdot 10^6$ fibres (longueur $> 10 \mu\text{m}$). g^{-1} de tissu pulmonaire sec [18 à 20].

3.4. ASBESTOSE

Les études publiées ont généralement établi l'existence, chez les patients atteints d'asbestose, de charges pulmonaires en fibres d'amphiboles bien supérieures à celles observées dans les cas de lésions pleurales d'origine asbestosique. L'importance de cette charge augmentait progressivement avec le degré de gravité de la fibrose [15, 21, 22]. Dans un laboratoire, la charge pulmonaire moyenne en fibres était comprise entre $130 \cdot 10^6$ fibres. g^{-1} de tissu pulmonaire sec (MET) dans les cas de fibrose histologiquement modérée et près de $2000 \cdot 10^6$ fibres. g^{-1} de tissu pulmonaire sec dans les asbestoses sévères [21]. Un autre laboratoire a observé que la concentration géométrique moyenne des fibres d'amiante (MET, fibres. g^{-1} de tissu pulmonaire sec)

dans une série de 38 cas d'asbestose était de $23 \cdot 10^6$ pour les fibres de moins de $5 \mu\text{m}$, de $5,9 \cdot 10^6$ pour les fibres de longueur comprise entre $5 \mu\text{m}$ et $9,9 \mu\text{m}$, et de $1,7 \cdot 10^6$ pour les fibres de longueur $\geq 10 \mu\text{m}$ [23]. Ces concentrations étaient de 20 à 140 fois supérieures à celles observées dans la population témoin, constituée d'hommes décédés à la suite d'un accident ou d'un infarctus du myocarde dans la même région que les cas d'asbestose. Des études complémentaires sont nécessaires pour déterminer l'influence des paramètres granulométriques et de la masse des fibres sur la survenue d'une fibrose. Par ailleurs, des données expérimentales semblent indiquer que la présence d'autres minéraux peut influencer sur l'effet de l'amiante dans l'apparition de la fibrose. Ces différents points n'ont pas été étudiés chez l'homme.

3.5. CANCER BRONCHOPULMONAIRE

L'exposition cumulée à l'amiante et la présence d'une fibrose asbestosique sont étroitement liées. Dans les études épidémiologiques, des risques augmentés de cancer bronchopulmonaire sont habituellement associés à des niveaux d'exposition suffisamment élevés pour induire une asbestose, et il est généralement admis que le risque de cancer bronchopulmonaire est augmenté en cas d'asbestose [24, 25]. Certaines études récentes ont également indiqué la possibilité d'un risque augmenté chez des travailleurs exposés ne présentant pas d'asbestose [26, 27]. Les concentrations de fibres trouvées dans les cas de cancer bronchopulmonaire attribuables à l'amiante dépendent des critères d'imputation utilisés.

En conclusion, l'analyse des fibres minérales a fourni des informations très utiles pour mieux comprendre les relations dose-réponse dans différentes maladies liées à l'amiante. Cette analyse a permis, pour la première fois, d'évoquer la possibilité que l'agent pathogène responsable soit l'un des contaminants du minéral mis en cause et non pas ce minéral lui-même. L'interprétation des résultats des mesures de concentration de fibres minérales varie dans chaque cas particulier en fonction de la maladie considérée. Il importe encore une fois de ne pas oublier qu'il convient d'interpréter avec prudence les comparaisons interlaboratoires des concentrations de fibres mesurées en ME pour les différentes catégories de maladie.

4. Corps asbestosiques dans le parenchyme pulmonaire, le liquide de lavage bronchoalvéolaire et l'expectoration

Les CA se forment sur des fibres d'amiante inhalées, déposées depuis au moins 4 à 6 mois dans les voies respiratoires inférieures. Seule une minorité des fibres inhalées va se retrouver gainée et donner naissance à des CA. L'apparition de CA dans les poumons est étroitement associée à la concentration de fibres longues d'amphiboles ; il est rare que les fibres de moins de 10 μm soient gainées [22, 28]. Des concentrations élevées de CA formés sur des fibres de chrysotile peuvent cependant être observées dans les poumons de travailleurs fortement exposés au chrysotile [29]. Etant donné que ce genre de formation peut également apparaître sur des fibres inorganiques non asbestosiques, on utilise parfois le terme de « corps ferrugineux ». Les corps ferrugineux non asbestosiques sont toutefois d'intérêt mineur puisque les CA représentent habituellement au moins 90 % de l'ensemble des corps ferrugineux [28 à 30]. Chez les fondeurs, les corps non asbestosiques peuvent constituer une part importante de l'ensemble des corps ferrugineux, et il semble que l'on observe chez les travailleurs de la sidérurgie une proportion de fibres d'amiante gainées supérieure à la moyenne [3, 31]. Il existe une corrélation statistique bien établie entre la charge en CA et la charge pulmonaire totale en fibres d'amiante. Cependant, une grande partie de la variation au niveau individuel est dissimulée par cette corrélation statistique. Cette variation résulte des divers facteurs succinctement décrits ci-dessus. En conséquence, la charge pulmonaire en CA ne donne qu'une estimation grossière de la charge pulmonaire totale en fibres d'amiante.

Les échantillons de parenchyme pulmonaire permettent de quantifier tous les CA provenant de l'espace alvéolaire et du compartiment interstitiel. Ce type d'analyse ne peut être effectué qu'après autopsie ou biopsie pulmonaire chirurgicale. Afin d'éviter le recours à cette procédure chirurgicale invasive et potentiellement dangereuse, l'attention s'est portée, au cours des vingt dernières années, sur le dosage des CA dans le LLBA ou les expectorations. Seuls les CA provenant de l'espace alvéolaire peuvent être quantifiés par l'analyse de ces deux types de prélèvements.

4.1. PARENCHYME PULMONAIRE

L'analyse quantitative dans le PP est la méthode de choix pour la quantification des corps asbestosiques

dans le poumon. Il existe une relation entre le nombre de CA sur des coupes histologiques après coloration de Perls et la concentration de CA obtenue après digestion de parenchyme pulmonaire [32]. Le comptage des CA sur des coupes de tissu après coloration de Perls et le comptage des CA dans des échantillons de PP après digestion tissulaire sont les méthodes le plus souvent mises en œuvre pour évaluer le contenu des poumons en CA. Des valeurs supérieures à 1000 CA.g⁻¹ de tissu pulmonaire sec et de 1 à 2 CA par coupe histologique sont habituellement considérées comme indiquant une exposition non négligeable (en général d'origine professionnelle) [5, 15, 32 à 34]. Les limites correspondantes peuvent être un peu plus hautes dans les régions où l'exposition aux fibres longues d'amphiboles est courante, par exemple, en Finlande, l'exposition à l'anthophyllite [6, 35].

La concentration de CA dans un même poumon peut varier d'un facteur 1 à 10, mais il n'y pas de consensus sur la question de savoir si la variation est systématique entre les lobes supérieur et inférieur ou les régions centrales et périphériques [3, 36]. Il se peut que cette variation soit en partie liée à la faible précision des méthodes d'analyse ou des modalités statistiques de comptage.

4.2. LIQUIDE DE LAVAGE BRONCHOALVÉOLAIRE

Le lavage bronchoalvéolaire est bien moins invasif que la biopsie pulmonaire chirurgicale, et permet de collecter les CA de l'espace intra-alvéolaire et des voies aériennes de conduction. Ces dernières années, plusieurs études ont été consacrées à la quantification des CA dans le LLBA et ont établi des corrélations entre ces valeurs et l'historique de l'exposition, l'activité professionnelle spécifique, les différentes maladies liées à l'amiante, les constatations radiologiques et le degré du retentissement fonctionnel.

Il est rare que des CA soient trouvés dans le LLBA de témoins sans exposition professionnelle ou environnementale spécifique ; si l'analyse en trouve, c'est habituellement à des concentrations inférieures à l'intervalle 0,5-1,0 CA.ml⁻¹. Dans une étude allemande portant sur 371 patients chez lesquels le questionnaire et l'anamnèse professionnelle ne retrouvaient pas l'existence d'exposition significative à l'amiante, 99 % de ces patients présentaient des concentrations inférieures à 0,5 CA.ml⁻¹ dans le LLBA [37]. En Belgique, des concentrations supérieures à 1,0 CA.ml⁻¹ ont été trouvées chez 6,0 % des 115 employés de bureau et chez 18 % des 117 ouvriers sans exposition professionnelle connue à l'amiante [38]. Des résultats similaires, portant sur plu-

sieurs autres grandes séries de patients, ont été publiés [15, 39, 40]. La concentration de CA dans le LLBA est globalement corrélée à l'exposition cumulée à l'amiante. Elle peut révéler, par exemple, une forte exposition indirecte passive qui peut ne pas être dépistée par le questionnaire ou l'interrogatoire professionnel ; elle peut aussi être utile lorsque ces informations ne sont pas disponibles ou lorsqu'elles sont peu fiables ou difficiles à quantifier (par exemple, dans le cas des métiers du bâtiment) ; cependant un résultat négatif dans le LLBA n'exclut pas une exposition significative, en particulier chez les travailleurs exposés au chrysotile.

Plusieurs études ont été consacrées à la corrélation entre la concentration de CA dans le LLBA et la concentration de CA ou de fibres d'amiante dans le PP [5, 6, 37, 41]. Les équations de régression évaluant les concentrations dans le parenchyme à partir de la concentration de CA dans le LLBA étaient très voisines [6]. Une concentration supérieure à 1 CA.ml⁻¹ était associée à une forte probabilité de trouver plus de 1000 CA.g⁻¹ de tissu pulmonaire sec. Dans deux études, la charge en fibres d'amphiboles totales dans le PP, évaluée en ME, était corrélée à la teneur en CA du LLBA [6, 42]. La teneur en chrysotile du PP n'était pas corrélée à la teneur en CA du LLBA [42].

En ce qui concerne les différents types de maladies liées à l'amiante, une concentration de CA dans le LLBA supérieure à 0,1 CA.ml⁻¹ a été trouvée dans 98 % des cas chez des patients belges atteints d'asbestose, dans 95 % des cas chez des patients atteints de lésions pleurales bénignes et dans 75 % des cas chez des patients atteints de mésothéliome malin [38]. Il existe un recouvrement considérable des valeurs des résultats obtenus chez des sujets présentant différentes catégories de ces maladies et des sujets sans affection liée à l'amiante. Les valeurs médianes étaient de 121 CA.ml⁻¹ pour l'asbestose, de 5 CA.ml⁻¹ pour les lésions pleurales bénignes et de 4 CA.ml⁻¹ chez les travailleurs exposés ne présentant pas de signe de maladie liée à l'amiante. Des résultats analogues ont été publiés sur de plus petites séries de patients [39, 43, 44].

S'il existe, dans l'ensemble, une bonne corrélation entre les concentrations de CA dans le LLBA et le PP, les causes de variation ne sont pas claires ; la variation peut être due :

- 1) à des différences entre la teneur alvéolaire en CA (mesurable par analyse du LLBA) et la teneur totale en CA (mesurable par digestion des tissus) ;
- 2) à une variation anatomique entre le site de prélèvement de LLBA et le prélèvement de PP ;
- ou
- 3) à des variations dans les techniques de lavage et de comptage.

Il a été constaté récemment que les concentrations de CA dans le LLBA étaient deux fois plus élevées dans les lobes inférieurs que dans les lobes supérieurs, tandis qu'il n'y a pas de différences significatives entre les sites de prélèvement de localisation équivalente dans le poumon droit et le poumon gauche [36]. Dans le même temps, deux études ont permis d'établir qu'il y a généralement une bonne reproductibilité intralaboratoire en cas de double comptage ou de lavage répété, en particulier lorsque la concentration est nettement augmentée [38, 43].

4.3. EXPECTORATION

Le recueil de l'expectoration est plus simple, moins invasif et moins coûteux que la biopsie chirurgicale ou le lavage bronchoalvéolaire. Les CA dans l'expectoration constituent un marqueur très spécifique de l'exposition passée à l'amiante, puisqu'il n'a été trouvé aucun faux-positif dans plus de 11 000 échantillons provenant de patients recrutés en population générale aux Etats-Unis [45]. Toutefois, la mesure des CA dans l'expectoration est très peu sensible pour l'évaluation de la charge pulmonaire en fibres d'amiante. Teschler et coll. [46] ont trouvé des échantillons d'expectoration positifs dans seulement 28, 43 et 79 % des cas chez des patients pour lesquels le LLBA contenait respectivement de 1 à 4,9 CA.ml⁻¹, de 5 à 49,9 CA.ml⁻¹ et plus de 50 CA.ml⁻¹. Chez les patients qui présentaient des CA dans le LLBA, les échantillons d'expectoration étaient négatifs chez 33 % des patients fortement exposés, 68 % des patients modérément exposés et 45 % des patients exposés de façon occasionnelle. Il a été démontré qu'il existait des fluctuations importantes dans la concentration de CA entre plusieurs échantillons recueillis chez un même patient et qu'une analyse portant sur plusieurs expectorations recueillies sur des jours différents pouvait diminuer le nombre de faux-négatifs [46, 47] ; cependant, même avec cinq expectorations, la sensibilité demeurait très faible [48]. Au moins trois études comparant les teneurs en CA dans le PP et dans l'expectoration ont indiqué que les CA n'apparaissent pas dans l'expectoration tant que la charge pulmonaire reste inférieure à une valeur de l'ordre de 1000 CA.g⁻¹ de tissu pulmonaire humide (soit à peu près 10 000 CA.g⁻¹ de tissu pulmonaire sec) [46]. L'absence de CA dans un échantillon d'expectoration n'exclut pas la possibilité d'une forte charge pulmonaire en CA. L'analyse des expectorations peut être utile dans les études de surveillance de populations pour lesquelles le questionnaire n'indique pas d'exposition à l'amiante, afin de détecter les individus présentant une rétention pulmonaire significative d'amphiboles ou de CA.

Du fait de son caractère non invasif, cette méthode de prélèvement peut présenter un intérêt en médecine du travail. Cependant, il faut se souvenir de la faible sensibilité de la méthode dans les deux cas d'application indiqués ci-dessus.

En conclusion, dans la pratique, l'analyse des CA dans le PP en MO est recommandée pour l'estimation de la charge pulmonaire totale en amphiboles, en l'absence d'historique de l'exposition à l'amiante ou si les données de cet historique ne sont pas concluantes, et à condition de disposer de PP provenant d'autopsies ou d'interventions chirurgicales. Des concentrations de corps asbestosiques supérieures à 1000 CA.g⁻¹ de tissu pulmonaire sec indiquent une exposition significative à l'amiante. L'analyse du LLBA pour l'estimation de la rétention pulmonaire en CA et de l'exposition passée peut aussi être effectuée dans les cas où l'historique de l'exposition est inconnu ou non concluant. Des concentrations supérieures à 1 CA.ml⁻¹ de LLBA sont associées à une forte probabilité de concentrations parenchymateuses supérieures à 1000 CA.g⁻¹ de tissu pulmonaire sec et à 1,0.10⁶ fibres d'amphiboles.g⁻¹ de tissu pulmonaire sec. L'analyse de l'expectoration est beaucoup moins sensible que celle du LLBA pour l'estimation de la charge pulmonaire en CA, mais un résultat positif dans l'expectoration permet de prédire une charge pulmonaire élevée.

5. Présence de fibres et de corps asbestosiques dans les échantillons biologiques : éléments pour l'interprétation

Des fibres d'amiante et des corps asbestosiques peuvent être trouvés dans les poumons de presque toutes les personnes ; pour une interprétation fiable des données quantitatives obtenues, il est indispensable d'avoir recours à des méthodes standardisées (voir chapitre 2) et il faut que la comparaison soit possible avec une population de référence adéquate, analysée par le même laboratoire (voir chapitre 1). En outre, il importe de comprendre que la teneur du poumon en fibres ou en CA au moment de l'analyse est influencée par des phénomènes complexes caractérisant l'exposition (type des fibres en suspension dans l'air, concentration, dimensions des fibres), ainsi que par les mécanismes de dépôt et de clairance. L'exposition cumulée et le temps écoulé depuis l'exposition influent sur les concentrations de fibres d'amiante et de CA dans le PP et le

LLBA (voir chapitres 3 et 4). Lors de l'interprétation des analyses de fibres minérales, il importe tout particulièrement de garder en mémoire que d'une part les fibres de chrysotile sont épurées beaucoup plus vite que les fibres d'amphiboles, et que d'autre part la teneur en CA du LLBA ou du PP reflète principalement la concentration des fibres longues d'amphiboles dans le parenchyme pulmonaire.

Plusieurs laboratoires, en Europe et en Amérique du Nord, considèrent qu'il y a exposition significative à l'amiante lorsque les concentrations mesurées sont supérieures aux valeurs suivantes : 1 CA.ml⁻¹ dans le LLBA, 1000 CA.g⁻¹ de tissu pulmonaire sec, 1,0.10⁶ fibres d'amphiboles (longueur > 1 µm).g⁻¹ de tissu pulmonaire sec et 0,1.10⁶ fibres d'amphiboles (longueur > 5 µm).g⁻¹ de tissu pulmonaire sec (voir chapitres 1 et 4). Ce sont là des limites relatives et arbitraires : elles renvoient à des niveaux qui sont rarement dépassés au cours de toute une vie d'employé de bureau (« col blanc »). La confrontation des concentrations de fibres ou de CA avec les données du calendrier professionnel des patients fait apparaître d'importants chevauchements entre les personnes classées comme exposées à l'amiante et les personnes classées comme non exposées. Cependant, les concentrations trouvées chez des personnes présentant de fortes expositions cumulées (les floqueurs, par exemple) dépassent largement les valeurs indiquées ci-dessus et peuvent, dans les cas d'asbestose sévère, atteindre des milliers de CA par millilitre de LLBA et des milliards de fibres d'amphiboles par gramme de tissu pulmonaire sec. En présence de concentrations élevées (par exemple, 50.10⁶ fibres.g⁻¹ de tissu pulmonaire sec), l'interprétation n'est généralement pas difficile ; toutefois des problèmes peuvent se poser, lors de l'analyse des prélèvements de LLBA en MET ou en MEB, s'il s'est écoulé peu de temps entre la dernière exposition et le prélèvement. En règle générale, les valeurs qui se situent aux alentours des niveaux de référence (par exemple, 0,7-1,5.10⁶ fibres d'amphiboles.g⁻¹ de tissu pulmonaire sec) sont moins faciles à interpréter.

En matière d'interprétation, il importe avant tout de se conformer à la règle suivante : une concentration élevée de fibres ou de CA dans le LLBA ou le PP indique une rétention en fibres augmentée par rapport à la population de référence non exposée. Cela traduit habituellement une exposition professionnelle, sans pour autant apporter la preuve de l'existence d'une maladie. Il est important, pour des raisons pratiques, d'établir les antécédents professionnels du patient dès la phase initiale des examens cliniques. Cela permet d'être sûr que, si des analyses minéralogiques sont nécessaires, les prélèvements pourront être faits au cours des procédures de diagnostic ou de traitement

TABLEAU V

Maladies pulmonaires et pleurales liées à l'amiante selon leur spécificité par rapport à l'exposition à l'amiante

	Non spécifiques	Spécifiques
Poumon	Cancer bronchopulmonaire Fibrose interstitielle diffuse (*)	Asbestose (*)
Plevre	Pleurésie bénigne Épaississement pleural diffus Atélectasie ronde	Mésothéliome Plaques pleurales bilatérales hyalines ou calcifiées

(*) Le terme «asbestose» renvoie à la définition classique de fibrose pulmonaire induite par l'amiante, maladie spécifique liée à l'amiante, bien définie en anatomo-pathologie [33]. Le diagnostic différentiel entre l'asbestose et d'autres types de fibroses pulmonaires diffuses non spécifiques, n'est toutefois pas possible à partir des seules données de radiographie pulmonaire ou de scanner thoracique.

effectuées en routine. Il est conseillé de ne pas recourir à des techniques invasives, tout particulièrement la thoracotomie, dans le seul but de recueillir des échantillons destinés aux analyses minéralogiques. Le recueil d'échantillons de PP de grandes dimensions devrait être limité aux autopsies et aux patients pour lesquels il y a une indication clinique d'intervention chirurgicale.

5.1. CONTRIBUTION À L'ÉVALUATION DE L'EXPOSITION

L'analyse minéralogique est un des nombreux moyens d'estimer l'exposition, comme l'enquête sur l'exposition professionnelle, le questionnaire standardisé et les données métrologiques en hygiène industrielle. L'analyse minéralogique contribue à l'évaluation de l'intensité de l'exposition passée, en particulier lorsque les autres données sont indisponibles ou peu fiables, ou que ces données se prêtent difficilement à l'interprétation quantitative. Ainsi, ce type d'analyse peut révéler l'existence d'une importante exposition indirecte passive, dont le patient ne s'est pas souvenu ou ne s'est même pas rendu compte ; il peut également révéler une importante exposition d'origine environnementale pendant l'enfance chez des personnes provenant de régions où ce genre d'exposition est susceptible d'avoir lieu. Des résultats positifs peuvent confirmer l'existence d'expositions passées ; par contre, des résultats négatifs ne sauraient emporter la décision si l'exposition professionnel est clairement objectivée par le calendrier professionnel, en particulier lorsqu'il s'agit d'une exposition au chrysotile. Chez les patients ayant fait l'objet d'un traitement chirurgical pour cancer bronchopulmonaire, le comptage systématique des CA dans le parenchyme

permet de détecter les patients qui nécessitent une analyse attentive des antécédents professionnels, des données histologiques ou de la rétention pulmonaire en fibres évaluée en ME [49].

5.2. CONTRIBUTION AU DIAGNOSTIC CLINIQUE

L'inhalation de fibres d'amiante est associée à toute une série de maladies et d'anomalies radiographiques au niveau du parenchyme pulmonaire et de la plèvre. Les maladies peuvent être plus ou moins spécifiques, influencées par l'exposition cumulée et, de ce fait, associées à différents niveaux de charge pulmonaire en fibres (tableau V et chapitre 3).

Maladies spécifiques

L'asbestose peut être diagnostiquée à l'examen anatomo-pathologique grâce à la détection, sur des coupes histologiques de PP, de nombreux CA et d'une fibrose pulmonaire diffuse [33]. L'asbestose est associée à des charges élevées de fibres et de CA dans le PP et le LLBA. Si seul un petit nombre de CA est détecté, il convient de réaliser une analyse en ME. Une charge en fibres dans les limites de la normale pour la population de référence non exposée (en l'absence d'antécédents manifestes d'exposition à l'amiante) constitue un argument important contre le diagnostic d'asbestose. L'analyse des CA ou des fibres peut permettre, en cas de doute devant une fibrose interstitielle diffuse, de confirmer ou de réfuter l'étiologie asbestosique et d'orienter le choix thérapeutique. Dans de nombreux pays, les caractéristiques épidémiologiques de l'asbestose se modifient : cette fibrose tend à concerner des

catégories plus âgées de la population et les atteintes sont plus modérées. Dans le même temps, l'incidence de la fibrose pulmonaire idiopathique semble augmenter [50]. Il faut s'attendre à rencontrer de plus en plus fréquemment des problèmes de diagnostic différentiel.

Le diagnostic du mésothéliome ou des plaques pleurales bilatérales est posé sur la base de données cliniques et histologiques. Dans certains cas, l'analyse minéralogique aide à établir l'étiologie de l'affection en cause (par exemple, le type de fibre) ; cependant ces deux maladies peuvent être associées à l'exposition à l'amiante, même avec des niveaux de rétention en fibres peu élevés (voir chapitre 3). Il est important de noter que les valeurs fournies par les analyses du LLBA et du PP constituent des marqueurs de la rétention en fibres au niveau alvéolaire et parenchymateux, mais ne reflètent pas directement l'accumulation des fibres dans la plèvre pariétale [13].

Maladies non spécifiques ou moins spécifiques

L'épanchement pleural bénin et l'épaississement pleural diffus peuvent avoir de multiples causes (médicaments, infections, anomalies du tissu conjonctif, etc.). Le diagnostic des cas imputables à l'amiante se fait par exclusion. Les calcifications pleurales unilatérales ou atypiques peuvent avoir d'autres étiologies que l'amiante (traumatisme, tuberculose, etc.). Le diagnostic clinique et le traitement du cancer bronchopulmonaire ne sont pas influencés par les analyses minéralogiques. Les atélectasies rondes peuvent être associées à différents niveaux de concentration pulmonaire de fibres [51]. Dans toutes ces maladies non spécifiques liées à l'amiante, l'analyse minéralogique n'est utile que pour le diagnostic étiologique.

5.3. CONSIDÉRATIONS D'ORDRE MÉDICO-LÉGAL

Les aspects médico-légaux des maladies liées à l'amiante dépendent des systèmes nationaux (ou locaux) de réparation. Il est néanmoins possible de dégager quelques règles :

- Un niveau de fibres supérieur à la valeur de référence ne constitue pas la preuve de l'existence d'une maladie mais l'indice d'une exposition. Dans de nombreux cas, une déclaration en maladie professionnelle est entreprise sur la base d'une simple augmentation de la teneur en CA du LLBA, en l'absence de manifestation radiologique ou clinique caractéristique d'une maladie liée à l'amiante, conduisant à un rejet de la demande.

- Si l'exposition professionnelle est évidente et la lésion spécifique (*tableau V*), une analyse minéralogique n'est habituellement pas exigée. Par contre, si les lésions ne sont pas spécifiques ou en présence de données peu claires sur l'exposition, la reconnaissance d'une pathologie liée à l'amiante est influencée par la présence d'un nombre élevé de fibres ou de CA. Plus la concentration de fibres ou de CA est élevée, plus la probabilité du rôle étiologique de l'amiante est forte.

- Du point de vue juridique, la réparation au titre des maladies professionnelles est liée à l'exposition dans le cadre d'une activité professionnelle. Dans certains cas, l'identification de trémolite par ME peut indiquer que l'on est en présence d'une maladie non professionnelle chez une personne originaire d'une région où il existe une exposition environnementale à la trémolite [52].

- Un problème prévisible est celui du rôle des analyses de CA ou de fibres dans la reconnaissance des cancers bronchopulmonaires professionnels liés à l'amiante. Ce problème fait l'objet d'un débat épidémiologique, et il n'y a pas actuellement de consensus scientifique (voir chapitre 3) ; cependant quelques recommandations pratiques ont été avancées [53].

Pour conclure, des méthodologies standardisées, des populations de référence adéquates et une compréhension globale des facteurs influençant la rétention, le dépôt et la clairance pulmonaires des fibres, ainsi que des différentes relations dose-réponse pour les différentes maladies liées à l'amiante, sont extrêmement importantes pour l'interprétation des résultats des analyses minéralogiques du PP et du LLBA. Ces résultats aident à établir le rôle étiologique de l'amiante, en particulier dans les cas où les données relatives à l'exposition provenant d'autres sources d'information sont indisponibles, peu fiables ou peu claires du point de vue quantitatif. Une charge élevée en fibres est un indice d'exposition mais pas une preuve de maladie. Un résultat négatif ne prouve pas l'absence d'exposition significative, surtout si le chrysotile est impliqué, mais il convient alors d'évaluer soigneusement l'historique des expositions. Il est recommandé, s'il n'y a pas d'indication clinique, de ne pas recourir à des procédures invasives, notamment la thoracotomie, en vue du recueil d'échantillons pour l'analyse minéralogique.

Bibliographie

- [1] POLLEY F.D. - Asbestos mineralogy. In : ANTMAN K., AISNER J. (éds) - Asbestos-related malignancy. Boston, Grune & Stratton, 1987, pp. 3-27.
- [2] WHO - Asbestos and other natural mineral fibres. Geneva, WHO, International Programme for Chemical Safety (IPCS), 1986, Environmental Health Criteria 53.
- [3] GIBBS A.R., POOLEY F.D. - Analysis and interpretation of inorganic mineral fibres in « lung » tissues. *Thorax*, 1996, **51**, pp. 327-334.
- [4] GIBBS A.R., POOLEY F.D. - Toxicology elsewhere. Bits and pieces: asbestos contamination in paraffin tissue blocks. *Human Experimentation and Toxicology*, 1996, **15**, pp. 85-86.
- [5] SEBASTIEN P., ARMSTRONG B., MONCHAUX G., BIGNON J. - Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage fluid and in lung parenchyma. *American Review of Respiratory Disease*, 1988, **137**, pp. 75-78.
- [6] KARIJALAINEN A., PIIPARI R., MÄNTYLÄ T. ET AL. - Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage in relation to asbestos bodies and asbestos fibers in lung parenchyma. *European Respiratory Journal*, 1996, **9**, pp. 1000-1005.
- [7] TOSSAVAINEN A. (ED) - Final Report. Measurement and testing programme project MATI-CT94-0072 - Reference materials for the analysis of asbestos fibres in lung tissue. Finnish Institute of Occupational Health, 1996.
- [8] WAIN S.L., ROGGLI V.L., FOSTER W.L. - Parietal pleural plaques, asbestos bodies, and neoplasia. A clinical, pathologic, and roentgenographic correlation of 25 consecutive cases. *Chest*, 1984, **86**, pp. 707-713.
- [9] GYLSETH B., MOWE G., SKAUG V., WANNAG A. - Inorganic fibers in lung tissue from patients with pleural plaques or malignant mesothelioma. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, 1981, **7**, pp. 109-113.
- [10] GIBBS A.R., POOLEY F.D., GRIFFITHS D.M. - Lung fibrous content of subjects with pleural plaques. *European Respiratory Journal*, 1994, **7**, suppl. 18, p. 425s.
- [11] KARIJALAINEN A., KARHUNEN P., LALU K., PENTTILÄ A., KYRÖNEN P., TOSSAVAINEN A. - Pleural plaques and exposure to mineral fibres in a male urban necropsy population. *Occupational and Environmental Medicine*, 1994, **51**, pp. 456-460.
- [12] ORLOWSKI E., PAIRON J.C., AMEILLE J. ET COLL. - Pleural plaques, asbestos exposure, and asbestos bodies in bronchoalveolar lavage. *American Journal of Industrial Medicine*, 1994, **26**, pp. 349-358.
- [13] BOUTIN C., DUMORTIER P., REY F., VIALLAT J.R., DE VUYST P. - Black spots concentrate oncogenic asbestos fibers in the parietal pleura. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 1996, **153**, pp. 444-449.
- [14] GIBBS A.R., STEPHENS M., GRIFFITHS D.M., BLIGHT B.J.N., POOLEY F.D. - Fibre distribution in the lungs and pleura of subjects with asbestos related diffuse pleural fibrosis. *British Journal of Industrial Medicine*, 1991, **48**, pp. 762-770.
- [15] ROGGLI V.L., PRATT P.C., BRODY A.R. - Asbestos content in lung tissue in asbestos associated disease: a study of 110 cases. *British Journal of Industrial Medicine*, 1986, **43**, pp. 18-29.
- [16] DUFRESNE A., BÉGIN R., CHURG A., MASSÉ S. - Mineral fiber content of lungs in patients with mesothelioma seeking compensation in Québec. *American Journal Respiratory and Critical Care Medicine*, 1996, **153**, pp. 711-718.
- [17] WAGNER J.C., BERRY G., POOLEY F.D. - Mesothelioma and asbestos type in asbestos textile workers: a study of lung contents. *British Medical Journal*, 1982, **285**, pp. 603-606.
- [18] TUOMI T., HUUSKONEN M., VIRTAMO M. ET COLL. - Relative risk of mesothelioma associated with different levels of exposure to asbestos. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, 1991, **17**, pp. 404-408.
- [19] RÖDELSPERGER K., WOITOWITZ H.J. - Airborne fibre concentrations and lung burden compared to the tumor response in rats and humans exposed to asbestos. *Annals of Occupational Hygiene*, 1995, **39**, pp. 715-725.
- [20] ROGERS A.J., LEIGH J., BERRY G., FERGUSON D.A., MULDER H.B., ACKAD M. - Relationship between lung asbestos fiber type and concentration and relative risk of mesothelioma. *Cancer*, 1991, **67**, pp. 1912-1920.
- [21] GIBBS A.R., GARDNER M.J., POOLEY F.D., GRIFFITHS D.M., BLIGHT B., WAGNER J.C. - Fibre levels and disease in workers from a factory using predominantly amosite. *Environment Health Perspectives*, 1994, **102**, suppl. 5, pp. 261-263.
- [22] ALBIN M., JOHANSSON L., POOLEY F.D., JAKOBSSON K., ATTEWELL R., MITHA R. - Mineral fibres, fibrosis, and asbestos bodies in lung tissue from deceased asbestos cement workers. *British Journal of Industrial Medicine*, 1990, **47**, pp. 767-774.
- [23] DUFRESNE A., BÉGIN R., MASSÉ S., DUFRESNE C.M., LOOSEREWANICH P., PERRAULT G. - Retention of asbestos fibres in lungs of workers with asbestosis, asbestosis and lung cancer, and mesothelioma in Asbestos township. *Occupational and Environmental Medicine*, 1996, **53**, pp. 801-807.
- [24] SLUIS-CREMER G.K., BEZUIDENHOUT B.N. - Relation between asbestosis and bronchial cancer in amphibole miners. *British Journal of Industrial Medicine*, 1989, **46**, pp. 537-540.
- [25] HUGHES J.M., WEILL H. - Asbestosis as a precursor of asbestos-related lung cancer: results of a prospective mortality study. *British Journal of Industrial Medicine*, 1991, **48**, pp. 229-233.
- [26] WILKINSON P., HANSELL D.M., JANSSEN J. ET COLL. - Is lung cancer associated with asbestos exposure when there are no small opacities on the chest radiograph. *The Lancet*, 1995, **345**, pp. 1074-1078.
- [27] HENDERSON D.W., DE KLERK N.H., HAMMAR S.P. ET COLL. - Asbestos-related lung cancer: is it attributable to asbestosis, or to asbestos fiber burden? In: CORRIEN B. (ED.) - Tumors of the lung: Contemporary issues. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1997, pp. 83-118.
- [28] CHURG A.M., WARNOCK M.L. - Asbestos and other ferruginous bodies: their formation and clinical significance. *American Journal of Pathology*, 1981, **102**, pp. 447-456.
- [29] DUMORTIER P., DE VUYST P., STRAUSS P., YERNAULT J.C. - Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage fluids of brake lining and asbestos cement workers. *British Journal of Industrial Medicine*, 1990, **47**, pp. 91-98.
- [30] MOULIN E., YOURASSOWSKY N., DUMORTIER P., DE VUYST P., YERNAULT J.C. - Electron microscopic analysis of asbestos body cores from the Belgian urban population. *European Respiratory Journal*, 1988, **1**, pp. 818-822.
- [31] DODSON R.F., O'SULLIVAN M., CORN C.J., GARCIA J.G.N., STOCKS J.M., GRIFFITH D.E. - Analysis of ferruginous bodies in bronchoalveolar lavage from foundry workers. *British Journal of Industrial Medicine*, 1993, **50**, pp. 1032-1038.
- [32] ROGGLI V.L., PRATT P.C. - Numbers of asbestos bodies in iron-stained tissue sections in relation to asbestos body counts in lung tissue digests. *Human Pathology*, 1983, **14**, pp. 355-361.

[33] CRAIGHEAD J.E., ABRAHAM J.L., CHURG A. ET COLL. - The pathology of asbestos-associated diseases of the lungs and pleural cavities: diagnostic criteria and proposed grading schema. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 1982, **106**, pp. 544-596.

[34] MONSÓ E., TEXIDÓ A., LOPEZ D. ET COLL. - Asbestos bodies in normal lung in Western Mediterranean populations with no occupational exposure to inorganic dust. *Archives of Environmental Health*, 1995, **50**, pp. 305-311.

[35] KARIJAINEN A., NURMINEN M., VANHALA E., VAINIO H., ANTTILA S. - Pulmonary asbestos bodies and asbestos fibers as indicators of exposure. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, 1996, **22**, pp. 34-38.

[36] TESCHLER H., KONIETZKO N., SCHOENFELD B., RAMIN C., SCHRAPS T., COSTABEL U. - Distribution of asbestos bodies in the human lung as determined by bronchoalveolar lavage. *American Review of Respiratory Disease*, 1993, **147**, pp. 1211-1215.

[37] TESCHLER H., HOHEISEL G., FISCHER M., MÜLLER K.M., KONIETZKO N., COSTABEL U. - Asbestkörperchengehalt der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit als Parameter einer erhöhten Asbestbelastung der Lunge. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 1993, **118**, pp. 1749-1754.

[38] DE VUYST P., DUMORTIER P., MOULIN E., YOURASSOWSKY N., YERNAULT J.C. - Diagnostic value of asbestos bodies in bronchoalveolar lavage fluid. *American Review of Respiratory Disease*, 1987, **136**, pp. 1219-1224.

[39] XAUBET A., RODRIGUEZ-ROISIN R., BOMBI J.A., MARIN A., ROCA J., AGUSTI-VIDAL A. - Correlation of bronchoalveolar lavage and clinical and functional findings in asbestosis. *American Review of Respiratory Disease*, 1986, **133**, pp. 848-854.

[40] KARIJAINEN A., PIIPARI R., MÄNTYLÄ T., NYKYRI E., TUKIAINEN P., ANTTILA S. - Asbestos bodies in BAL according to job trade. *European Respiratory Journal*, 1996, **9**, suppl. 23, p. 247s.

[41] DE VUYST P., DUMORTIER P., MOULIN E. ET COLL. - Asbestosis bodies in bronchoalveolar lavage reflect lung asbestos body concentration. *European Respiratory Journal*, 1988, **1**, pp. 362-367.

[42] TESCHLER H., FRIEDRICH K.H., HOHEISEL B. ET COLL. - Asbestos fibers in bronchoalveolar lavage and lung tissue of former asbestos workers. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 1994, **149**, pp. 641-645.

[43] SCHWARTZ D.A., JEFFERY R.G., BURMEISTER L.F. ET COLL. - The clinical utility and reliability of asbestos bodies in bronchoalveolar fluid. *American Review of Respiratory Disease*, 1991, **144**, pp. 684-688.

[44] PAIRON J.C., ORLOWSKI E., IWATSUBO Y. ET COLL. - Pleural mesothelioma and exposure to asbestos: evaluation from work histories and analysis of asbestos bodies in bronchoalveolar lavage fluid or lung tissue in 131 patients. *Occupational and Environmental Medicine*, 1994, **51**, pp. 244-249.

[45] MODIN B.E., GREENBERG S.D., BUFFLER P.A., LOCKHART J.A., SEITZMAN L.H., AWE R.J. - Asbestos bodies in a general hospital/clinical population. *Acta Cytologica*, 1982, **26**, pp. 667-677.

[46] TESCHLER H., THOMPSON A.B., DOLLENKAMP R., KONIETZKO N., COSTABEL U. - Relevance of asbestos bodies in sputum. *European Respiratory Journal*, 1996, **9**, pp. 680-686.

[47] McDONALD J.C., SEBASTIEN P., CASE B., McDONALD A.D., DUFRESNE A. - Ferruginous body counts in sputum as index of past exposure to mineral fibres. *Annals of Occupational Hygiene*, 1992, **36**, pp. 271-282.

[48] SULOTTO F., CAPELLARO E., CHIESA A., VILLARI S., BONTEMPI S., SCANSETTI G. - Relationship between asbestos bodies in sputum and the number of specimens. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, 1997, **23**, pp. 48-53.

[49] DE VUYST P., MISSOUNI A., VAN MUYLEM A., ROCMANS P., DUMORTIER P. - Systematic asbestos bodies counting in lung specimens resected for lung cancer. *European Respiratory Journal*, 1997, **10**, suppl. 25, p. 19s.

[50] JOHNSTON I., BRITTON J., KINNEAR W., LOGAN R. - Rising mortality from cryptogenic fibrosing alveolitis. *British Medical Journal*, 1990, **301**, pp. 1015-1017.

[51] VOISIN C., FISECKI F., VOISIN-SALTIEL S., AMELLE J., BROCHARD P., PAIRON J.C. - Asbestos-related rounded atelectasis - radiologic and mineralogic data in 23 cases. *Chest*, 1995, **107**, pp. 477-481.

[52] DE VUYST P., DUMORTIER P., JACOBOWITZ D., EMRI S., COPLU L., BARIS I. - Environmental asbestosis complicated by lung cancer. *Chest*, 1994, **105**, pp. 1593-1595.

[53] HENDERSON D., RANTANEN J., BARNHART S. ET COLL. - Asbestos, asbestosis and cancer. The Helsinki criteria for diagnosis and attribution. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, 1997, **23**, pp. 306-311.

INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE ET DE SÉCURITÉ - 30, rue Olivier-Noyer, 75680 Paris cedex 14

Tiré à part de *Documents pour le médecin du travail*, 1^{er} trimestre 2000, n° 81 - TC 76 - 500 ex.
N° CPPAP 804/AD/PC/DC du 14-03-85. Directeur de la publication : J.L. MARIÉ. ISSN 0339-6517 - ISBN 2-7389-0886-1

JOUVE-Paris